

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 69—70, Januar 1970

Enzymaktivitäten in verschiedenen Rattenorganen nach Verfütterung einer Mg-Mangel-Kost

Von TH. GÜNTHER

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Schütte)

(Eingegangen am 29. September 1969)

Nach 38tägiger Mg-armer Ernährung waren bei Ratten in der Leber die Aktivitäten von Glucose-6-phosphatdehydrogenase, Enolase, Pyruvatkinase sowie Aspartattransaminase und im Herz die Aktivitäten von Glucose-6-phosphatdehydrogenase und Pyruvatkinase erhöht. Im Skelettmuskel war die Aktivität der Glucose-6-phosphatdehydrogenase angestiegen, die von Aldolase, Enolase und Pyruvatkinase vermindert. Im Serum hatte die Aktivität der Pyruvatkinase und der Aspartattransaminase zugenommen, die der Enolase abgenommen.

Enzyme activities in various organs of the rat after feeding a Mg-deficient diet

Rats were fed for 38 days on a Mg-deficient diet. The activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase, enolase, pyruvate kinase and aspartate transaminase in the liver, and glucose-6-phosphate dehydrogenase and pyruvate kinase in the heart were increased. In skeletal muscle, the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase increased, while aldolase, enolase and pyruvate kinase showed a decreased activity. In the serum, pyruvate kinase and aspartate transaminase were increased and enolase was decreased.

Bei der Analyse der Stoffwechselveränderungen, die bei Mg-verarmten Zellen von *E. coli* auftreten, fanden wir, daß in den Mg-verarmten Zellen verschiedene Enzyme in veränderter Konzentration vorliegen (1, 2). Da in der Leber und Muskulatur von Mg-arm ernährten Ratten gleichartige Änderungen im Wasser- und K-Gehalt wie bei Mg-arm gewachsenen Zellen von *E. coli* auftreten (3), untersuchten wir auch den Enzymgehalt einiger Rattenorgane.

Methode

Die Ratten wurden, wie in der vorangegangenen Mitteilung beschrieben (3), behandelt.

Die in Äthernarkose entnommenen identischen Organproben wurden sofort in flüssiger Luft eingefroren und bei -20° aufbewahrt. Zur Bestimmung der Enzymaktivitäten wurden die Organe gewogen. Etwa 1 g wurde mit 7 ml 0,25M Rohrzuckerlösung, die 2 mM $MgCl_2$ und 2 mM EDTA enthielt und auf pH 7,6 eingestellt war, im Ultraturrax 5 mal je $\frac{1}{4}$ Min. homogenisiert und dazwischen jeweils $\frac{3}{4}$ Min. in einer Eis-NaCl-Mischung gekühlt und anschließend noch etwa $\frac{1}{4}$ Min. mit Ultraschall unter Kühlen nachbehandelt.

Die Enzymaktivitäten im 40000-g-Überstand wurden bei 25° in optischen Testen bestimmt. Die Ansätze in 2 ml 0,075M Triäthanolaminpuffer pH 7,6 enthielten (in μ Mol):

- HEX¹⁾: Glucose 4, $MgCl_2$ 2, NADP 1, ATP 1, G-6-PDH 20 μ g, Start mit ATP.
PFK: $MgCl_2$ 5, ATP 0,4, NADH 0,3, Fructose-6-phosphat (F-6-P) 1,3, ALD¹⁾ 200 μ g, Glycerophosphatdehydrogenase (GDH) 20 μ g, Trioseisomerase (TIM) 20 μ g, Start mit F-6-P.

¹⁾ Abkürzungen: HEX: Hexokinase (EC 2.7.1.1); PFK: Phosphofruktokinase (EC 2.7.1.11); ALD: Aldolase (EC 4.1.2.13); ENOL: Enolase (EC 4.2.1.11); PK: Pyruvatkinase (EC 2.7.1.40); LDH: Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27); G-6-PDH: Glucose-6-phosphatdehydrogenase (EC 1.1.1.40); GLDH: Glutamatdehydrogenase (EC 1.4.1.2); GPT: Glutamat-pyruvat-transaminase (EC 2.6.1.1); GOT: Glutamat-oxalacetat-transaminase (EC 2.6.1.1); MDH: Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37); ICDH: Isozitratdehydrogenase (EC 1.1.1.42).

- ALD: NADH 0,3, EDTA 4, $MgCl_2$ 4, Fructose-1,6-diphosphat (FDP) 8, GDH 20 μ g, TIM 20 μ g, Start mit FDP.
ENOL: $MgCl_2$ 10, KCl 150, NADH 0,3, 2-Phosphoglycerinsäure 1,2, ADP 2, PK 200 μ g, LDH 100 μ g, Start mit 2-Phosphoglycerinsäure.
PK: NADH 0,3, ADP 2, Phosphoenolpyruvat 1,6, $MgCl_2$ 10, KCl 200, LDH 100 μ g, Start mit ADP.
LDH: NADH 0,3, Pyruvat 4,8, $MgCl_2$ 4, EDTA 4, Start mit Pyruvat.
G-6-PDH: $MgCl_2$ 4, EDTA 4, NADP 0,3, Glucose-6-phosphat (G-6-P) 3,6, Start mit G-6-P.
GLDH: 2-Oxoglutaratsäure 28, NH_4 Cl 100, NADH 0,3, $MgCl_2$ 4, EDTA 4, Start mit 2-Oxoglutaratsäure.
GPT: NADH 0,3, D,L-Alanin 40, 2-Oxoglutarat 20, LDH 100 μ g, Start mit 2-Oxoglutarat.
GOT: 2-Oxoglutaratsäure 20, L-Asparaginat 105, NADH 0,3, MDH 100 μ g, Start mit 2-Oxoglutaratsäure.
ICDH: $MgCl_2$ 28, EDTA 4, NADP 0,3, D-Isocitrat 2,6, Start mit D-Isocitrat.

Ergebnisse und Diskussion

Die Enzymaktivitäten der einzelnen Organe sind in Tabelle 1 dargestellt. Die gemessenen Enzymaktivitäten stimmen überein mit den Enzymaktivitäten anderer Untersucher (4) mit Ausnahme der Aktivitäten von Hexokinase und Phosphofruktokinase. Bei diesen Enzymen fanden wir wesentlich geringere Aktivitäten. Sie liegen in der Größenordnung, die LONG (5) an der Leber ermittelt hat. Diese geringeren Aktivitäten der Hexokinase und Phosphofruktokinase sind wahrscheinlich bedingt durch die intensivere Homogenisierung im Ultraturrax und mit Ultraschall gegenüber dem Aufschluß im Potter-Elvehjem-Homogenisator.

Von den untersuchten Enzymen war die Glucose-6-phosphatdehydrogenase in den Organen der Mg-arm ernährten Ratten erhöht. Die größte Zunahme fanden

Tab. 1
Enzymaktivitäten in verschiedenen Organen von normalen und Mg-arm ernährten Ratten. Angaben in $\mu\text{Mol/Min.} \cdot \text{g}$ Feuchtgewicht (U/g)

	Niere		Herz		Leber		Muskel	
	Kontrolle	Mg-arm	Kontrolle	Mg-arm	Kontrolle	Mg-arm	Kontrolle	Mg-arm
HEX	0,61 \pm 0,04	0,62 \pm 0,04	0,39 \pm 0,03	0,49 \pm 0,03	0,17 \pm 0,03	0,12 \pm 0,02	0,09 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01
PFK	0,07 \pm 0,02	0,07 \pm 0,02	3,58 \pm 0,71	2,55 \pm 0,30	0,09 \pm 0,03	0,07 \pm 0,02	0,08 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02
ALD	16,8 \pm 1,5	17,0 \pm 1,1	7,18 \pm 0,34	6,57 \pm 0,34	2,61 \pm 0,17	3,20 \pm 0,24	60,6 \pm 6,0	41,2 \pm 3,4
ENOL	48,7 \pm 1,7	45,1 \pm 6,0	30,9 \pm 1,80	26,3 \pm 1,85	19,6 \pm 0,9	28,0 \pm 1,3	137,0 \pm 10	107 \pm 9,0
PK	17,0 \pm 2,5	18,6 \pm 1,0	64,8 \pm 5,1	78,2 \pm 3,7	14,7 \pm 1,9	21,1 \pm 2,1	204 \pm 14	164 \pm 12
LDH	142 \pm 9,5	153 \pm 6,4	453 \pm 10,3	461 \pm 14,2	575 \pm 40	685 \pm 42	710 \pm 30	715 \pm 55
G-6-PDH	1,13 \pm 0,05	1,28 \pm 0,07	0,20 \pm 0,02	0,29 \pm 0,03	2,18 \pm 0,19	4,30 \pm 0,54	0,04 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01
GIDH	14,1 \pm 1,0	14,1 \pm 0,5	2,11 \pm 0,09	2,32 \pm 0,12	0,76 \pm 0,09	0,73 \pm 0,04	0,15 \pm 0,03	0,16 \pm 0,01
GPT	6,80 \pm 0,78	5,47 \pm 0,84	2,72 \pm 0,12	2,91 \pm 0,12	7,10 \pm 0,42	6,42 \pm 0,55	1,23 \pm 0,09	1,15 \pm 0,12
GOT	72,4 \pm 4,4	66,0 \pm 3,9	112,5 \pm 3,9	118,5 \pm 5,0	41,5 \pm 1,4	57,0 \pm 4,2	21,7 \pm 2,2	22,9 \pm 2,1
ICDH	9,70 \pm 0,47	11,6 \pm 0,86	23,2 \pm 1,8	27,0 \pm 2,1	8,42 \pm 0,48	8,40 \pm 0,45	1,35 \pm 0,20	1,44 \pm 0,16

wir in der Leber, die Zunahme der Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Aktivität in der Niere war allerdings nicht signifikant. Auch die anderen Enzymaktivitäten in der Niere zeigten keine signifikanten Unterschiede. Offenbar kompensieren sich die histochemisch in verschiedenen Nierenabschnitten feststellbaren Zu- und Abnahmen einiger Dehydrogenase-Aktivitäten (6).

Darüberhinaus waren im Herzmuskel die Aktivität der Pyruvatkinase und in der Leber die Aktivität der Enolase, Pyruvatkinase und Aspartattransaminase erhöht, in der Skelettmuskulatur die Aktivität der Aldolase, der Enolase und der Pyruvatkinase vermindert. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß eine Erhöhung der Ornithintranscarbamylase (EC 2.1.3.3) in der Leber von Mg-arm ernährten Tieren beschrieben wurde (7).

Die Veränderungen der Enzymaktivitäten waren gering und betrugen maximal das 0,5- bzw. 2fache der Kontrollwerte.

Die Ursachen für das Verhalten der Enzymaktivitäten sind nicht bekannt. Es ist formal möglich, daß sich die Synthese- oder die Abbaugeschwindigkeiten bei einigen Enzymen im Mg-Mangelzustand geändert haben. Ob hierfür die geringfügigen Änderungen des intrazellulären Mg-, Na-, K- und Ca-Gehaltes unmittelbar verantwortlich sind, bleibt offen, ebenso, ob sich Konsequenzen für den Zellstoffwechsel ergeben.

Von den getesteten Enzymen, die in der Zelle die höchsten Aktivitäten haben, bestimmten wir zusätzlich ihre Aktivität im Serum (Tab. 2). Dabei fanden wir, daß im Serum der Mg-arm ernährten Ratten die Enolase-Aktivität vermindert, die Lactatdehydrogenase-Aktivität un-

Tab. 2
Enzymaktivitäten im Serum normaler und Mg-arm ernährter Ratten. Angaben in $\text{nMol/Min.} \cdot \text{ml}$ (mU/ml)

	Kontrolle	Mg-arm
ENOL	40,1 \pm 2,4	27,3 \pm 2,7
PK	6,0 \pm 1,2	19,4 \pm 2,4
LDH	206 \pm 12	200 \pm 7
GOT	77,5 \pm 6,6	149,5 \pm 15,7

verändert und die Pyruvatkinase- sowie Aspartattransaminase-Aktivität erhöht waren. Eine erhöhte Serum-Aspartattransaminase und eine unveränderte Lactatdehydrogenase-Aktivität im Serum von Mg-arm ernährten Ratten wurde inzwischen auch von KIESEL und Mitarbeitern (8) beschrieben. Darüber hinaus war im Serum von Mg-Mangeltieren die Aktivität der alkalischen Phosphatase angestiegen, die Aktivität der Alanintransaminase, Isocitratdehydrogenase, der sauren Phosphatase und der β -Hydroxy-buttersäuredehydrogenase gleichgeblieben und die Aldolase-Aktivität abgesunken (8).

Als Ursachen für die veränderten Enzymaktivitäten im Serum kann man eine veränderte Permeabilität und/oder eine erhöhte Absterberate von Zellen bei einer für die einzelnen Enzyme verschiedenen Eliminationsgeschwindigkeit aus dem Serum (9) annehmen. Damit übereinstimmend sieht man in den elektronenmikroskopischen Bildern (10) von Niere, Herz und Muskel Mg-arm ernährter Tiere freie Zellorganellen zwischen den Zellen. Die dazugehörenden Zellen können in vivo oder während der Präparation zerfallen sein. Dieser Befund zeigt jedoch, daß die Zellmembranen bei Mg-arm ernährten Tieren weniger stabil sind.

Literatur

1. GÜNTHER, TH. und P. MARISS, Zschr. Naturforsch. 23b, 338 (1968). — 2. GÜNTHER, TH., Zschr. Naturforsch. 24b, 428 (1969).
3. GÜNTHER, TH., diese Z. 8, 65 (1970). — 4. v. FELLEBERG, R., H. EPPENBERGER, R. RICHTERICH und H. AEBI, Biochem. Z. 336, 334 (1962). — 5. Zitiert nach 4. — 6. HESS, R., I. MAC INTYRE, N. ALCOCK und A. G. E. PEARSE, Brit. J. Exper. Path. 40, 80 (1959).
7. LIZZARRALDE, G., V. E. MAZZOCCO und E. B. FLINK, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 126, 249 (1967). — 8. KIESEL, G. K., H. D. ALEXANDER und G. BROOKS, Cornell Vet. 59, 89 (1969). — 9. AMELUNG, D., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 318, 219 (1960). — 10. MERKER, H. J. und TH. GÜNTHER, diese Z. 8, 71 (1970).

Prof. Dr. Th. Günther
1000 Berlin 33
Arnimallee 22